

# BREVET D'INVENTION

# CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

REC'D 0 6 DEC 1999 WIPO PCT

# **COPIE OFFICIELLE**

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 2 6 NOV. 1999

Pour le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle Le Chef du Département des brevets

PRIORITY DOCUMENT SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Martine PLANCHE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIETE SIEGE 26 bis, rue de Saint Petersbourg 75800 PARIS Cédex 08 Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30



Marie-José VIALLE-PRESLES (N° 93-2009)

# BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuel





## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg Confirmation d'un dépôt par télécopie 75800 Paris Cedex 08 Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30 Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en l - Réservé à l'INPI -NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE DATE DE REMISE DES PIÈCES 1 Q NOV 1998 À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL 98 14135 -DÉPARTEMENT DE DÉPÔT 95CABINET ORES 6, avenue de Messine '10 NOV. 1998 DATE DE DÉPÔT 75008 PARIS 2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle demande divisionnaire n°du pouvoir permanent références du correspondant X brevet d'invention téléphone MJPcb191/152FR certificat d'utilité transformation d'une demande de brevet européen brevet d'invention certificat d'utilité nº Établissement du rapport de recherche différé [X] immédiat Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance de l'invention (200 caractères maximum) UTILISATION DE PUROINDOLINE POUR LA PREPARATION DE BISCUITS 3 DEMANDEUR (S) nº SIREN Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination Forme juridique formulaire, tile garantit un droit d'acces et de LU Société Anonyme Nationalité (s) Française dresse (s) complète (s) Pays ZI du Bois de l'Epine FRANCE Avenue Ambroise Croizat 91130 RIS ORANGIS INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs oui X non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée requise pour la 1ère fois RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES requise antérieurement au dépôt ; joindre copie de la décision d'admission DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE pays d'origine data de dépôt nature de la demande **DIVISIONS** antérieures à la présente demande SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI (nom et qualité du signataire)



## **DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR**

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

DEPARTEMENT DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Pétersbourg 75800 Paris Cédex 08

MJPcb191/152FR

Tél.: 01 53 04 53 04 - Télécopie: 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

9214135

#### TITRE DE L'INVENTION:

UTILISATION DE PUROINDOLINE POUR LA PREPARATION DE BISCUITS

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

Marie-José VIALLE-PRESLES CABINET ORES 6, avenue de Messine 75008 PARIS

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

- Laurence DUBREIL Le Tertre 44430 LE LOROUX BOTTEREAU, FRANCE
- Anne LE GUILLOU 72 rue Emile Zola 94260 FRESNES, FRANCE
- Aliette VEREL 8 résidence du Chat Noir 91570 BIEVRES, FRANCE

NOTA: A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

Marie-José VIALLE-PRESLES (N° 93-2009)

# UTILISATION DE PUROINDOLINE POUR LA PREPARATION DE BISCUITS

L'invention est relative à l'utilisation de 5 puroindolines en tant qu'additif de biscuiterie.

Les puroindolines sont des protéines présentes dans le grain de blé, et ayant la capacité d'interagir les lipides. 2 isoformes des puroindolines, respectivement dénommées puroindoline a 10 puroindoline b, ont été caractérisées. Ιl s'agit protéines basiques (pI ~10) de faible poids moléculaire (13 kDa environ) ; elles comprennent 10 résidus cystéine, formant 5 ponts disulfures, et un domaine riche résidus tryptophane [BLOCHET et al., In: « Gluten 15 Proteins 1990 »; (BUSHUK W. and TKACHUK R., eds), AACC, St Paul Minnesota, pp 314-325 (1991); BLOCHET et al., FEBS Lett., 329:336-340, (1993).

D'autre part, une publication récente [GIROUX MORRIS, Proceedings of the National Academy 20 Sciences, vol. 95 p.6262-6266, (1998)] indique que protéine dénommée friabiline, considérée marqueur biochimique de la dureté des grains de blé [GREENWELL et SCHOFIELD, Cereal Chem., 63, (1986)], est un hétérodimère de puroindolines a et b 25 impliqué dans le contrôle de la dureté de l'endosperme.

Les puroindolines possèdent des propriétés tensioactives particulières, liées à leur forte affinité pour les lipides; elles ont en particulier un fort pouvoir moussant, qui est augmenté en présence de lipides polaires [DUBREIL et al. J. Agric. Food Chem. 45:108-116 (1997); WILDE et al., J. Agric. Food Chem., 41, 1570-1576 (1993)]. Il a ainsi par exemple été montré que l'addition de puroindoline permettait de restaurer les propriétés moussantes de la bière additionnée d'acide stéarique, de phospholipides, ou de triglycérides [CLARK et al., J. Inst. Brew. 100, 23-25 (1994)], ou celles du

30

blanc d'oeuf additionné d'huile [HUSBAND et al., In : « Food Macromolecules and Colloids » (DICKINSON E. et LODENT D., eds), Royal Society of Chemistry, London, pp. 285-296, (1995)].

récents, concernant les travaux Des 5 propriétés des potentielles des applications puroindolines dans le cadre de la fabrication du pain, faible quantité l'ajout d'une que puroindoline (0,1% par rapport au poids de la farine) modifie fortement les propriétés rhéologiques de la pâte 10 et la structure de la mie des pains [DUBREIL et al. Cereal Chem. 75, 2: 222-229, (1998)]. Toutefois, l'effet des puroindolines sur le volume du produit final après cuisson varie nettement selon la qualité boulangère de la farine utilisée (qui est liée pour une grande part à sa 15 composition en gluténines). Lorsque les puroindolines sont ajoutées à une farine de bonne qualité boulangère, on observe une diminution de l'ordre de 10% du volume du une augmentation termes, (en d'autres pain, densité) par rapport au pain fabriqué sans ajout 20 puroindolines; cette diminution de volume atteint 20% si une farine de mauvaise qualité boulangère est utilisée. En revanche, si on ajoute les puroindolines à une farine de qualité boulangère moyenne (résultant du mélange des 2 précédentes), on observe une augmentation du volume du 25 pain de l'ordre de 20%.

Les Inventeurs ont entrepris l'étude de l'effet des puroindolines sur des préparations plus complexes que la pâte à pain, telles que les pâtes habituellement utilisées en pâtisserie et en biscuiterie.

30

35

Ils ont ainsi constaté que l'addition de puroindoline lors de la préparation de biscuits induisait un effet significatif sur la texture et/ou la densité du produit fini, et qu'il était possible de contrôler indépendamment ces deux paramètres.

La présente invention a pour objet l'utilisation de puroindoline comme additif permettant de contrôler la texture et/ou la densité d'un biscuit.

Au sens de la présente invention, on entend par : « puroindoline », non seulement les puroindolines a et b de blé, mentionnées ci-dessus, mais également toute protéine ou tout peptide possédant des caractéristiques fonctionnelles et structurales similaires desdites puroindolines de blé, et en particulier toute 10 protéine constituée par au moins une chaîne polypeptidique comprenant au moins 8 résidus cystéine impliqués dans des ponts disulfures, et un domaine riche tryptophane, et possédant une affinité pour lipides et des propriétés tensioactives semblables 15 celles desdites puroindolines de blé.

Ceci inclut en particulier toute protéine naturelle ou recombinante, constituée par au moins une chaîne polypeptidique ayant la séquence d'une des isoformes ou variants alléliques des puroindolines blé, ou de protéines homologues présentes dans d'autres céréales telles que l'avoine, l'orge, le triticale, seigle, ou par au moins une chaîne polypeptidique comprenant au moins les portions caractéristiques ladite séquence, et nécessaires aux propriétés fonctionnelles des puroindolines, telles que définies cidessus.

20

25

Ces puroindolines peuvent être utilisées sous forme de monomères ainsi que sous forme d'assemblages homomères ou hétéromères.

30 Au sens de la présente invention, on entend par : « biscuit », tout produit obtenu par cuisson d'un mélange, généralement sous forme de pâte, comprenant, outre de la farine de céréale(s), d'autres ingrédients apportant des protéines, des glucides, et/ou des 35 lipides ; il peut s'agir par exemple de protéines d'origine animale telles que les protéines d'œuf,

lait, etc., de protéines d'origine végétale telles que les protéines de soja, etc., de sucre, de matières grasses d'origine animale ou végétale. La pâte ingrédients, selon une desdits partir préparée, à techniques classiquement utilisées en quelconque des biscuiterie, qui sont connues en elles-mêmes; on peut ainsi, par exemple, préparer une pâte laminée, ou formée par rotative, (pour obtenir des produits de type biscuit sec), une pâte levée pour obtenir des produits de type cake), une pâte foisonnée (pour obtenir des produits de génoise), une pâte fermentée pour obtenir des On peut également de type « cracker » etc. produits préparer un biscuit en effectuant tout ou partie du mélange, du pétrissage et de la cuisson des ingrédients, dans un cuiseur-extrudeur.

10

15

20

25

Les travaux antérieurs dans le domaine de la boulangerie mentionnés ci-dessus, ont montré que l'ajout dépourvues farines des puroindolines à puroindolines endogènes, entraînait une augmentation de la densité, et donc une diminution du volume du pain Il et al., publication précitée (1997)[DUBREIL l'utilisation en que supposé être donc pouvait additionnées de . farines mêmes ces biscuiterie de puroindolines, entraînerait des effets semblables.

Or les Inventeurs ont constaté que, de manière surprenante, l'ajout de puroindoline dans le cadre de la préparation de biscuits n'entraînait d'augmentation de la particulier des le cas dans densité que foisonnés préparés à partir d'une pâte à teneur élevée (c'est à dire supérieure à 7%) en matière grasse, 30 pouvait, dans ce cas, être contrebalancée par l'addition on observe d'émulsifiants. Dans les autres cas, contraire une diminution de la densité ; d'autre part, on observe que l'ajout de puroindolines entraîne dans tous les cas une augmentation de la fermeté des biscuits 35 moelleux et des biscuits foisonnés.

Les effets de l'utilisation de puroindoline peuvent être modulés selon la teneur en eau de la pâte, et/ou sa teneur en matières grasses et/ou la quantité d'émulsifiant qu'elle contient.

La diminution de la densité induite par l'addition de puroindolines est par exemple plus faible dans le cas des produits obtenus à partir d'une pâte contenant peu d'eau (biscuits secs laminés, par exemple).

L'effet sur la diminution de la densité devient également moins important lorsque la teneur en matières grasses augmente ; comme indiqué ci-dessus, pour une teneur élevée en matières grasses, on observe au contraire dans le cas des biscuits foisonnés, une augmentation de la densité.

15 Toutefois, dans les biscuits foisonnés contenant de la matière grasse et des puroindolines, la diminution de la densité est favorisée par l'addition d'émulsifiants tels que la lécithine, les mono et di glycérides d'acides gras, les esters acétiques, lactiques, citriques, tartriques des mono et diglycérides 20 d'acides gras, les esters mono- et di- acétyltartrique des mono et di glycérides d'acides gras, les esters mixtes acétiques et tartriques des mono et di glycérides d'acides gras, les sucroesters d'acides gras, les esters 25 polyglycériques d'acides gras, les esters de propane 1, 2 diol d'acides gras, le stéaroyl-2- lactylate de sodium, le stéaroyl-2-lactylate de calcium. Les émulsifiants permettent de contrebalancer l'effet d'une teneur élevée en matières grasses susceptibles de piéger les 30 puroindolines.

Conformément à l'invention, ladite puroindoline peut par exemple être utilisée :

- pour diminuer la densité d'un biscuit foisonné obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en 35 matière grasse est inférieure ou égale à 4% du poids total de la pâte;

- pour diminuer la densité d'un biscuit, sec ou moelleux, non-foisonné obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est comprise entre 2% et 30%, de préférence entre 2 et 20 % dans le cas d'un biscuit sec, du poids total de la pâte;

5

10

fermeté d'un biscuit pour augmenter la foisonné; cette augmentation fermeté moelleux ou contribue notamment à l'obtention d'une sensation de fondant en bouche, appréciée des consommateurs.

La puroindoline induit une diminution de la supérieure à celle observée dans les densité avec des produits habituellement employés conditions, tels que biscuits, des densité diminuer la avantageusement être donc l'ovalbumine ; elle peut utilisée en remplacement de tout ou partie de 15 produits, ou d'ingrédients qui les contiennent, notamment les oeufs. L'effet sur la diminution de la densité sera alors d'autant plus marqué que la diminution quantité d'œufs entraîne un abaissement de la totale en matières grasses dans le produit fini. 20 les œufs constituant une matière première très outre, variable en termes de qualité, leur remplacement par la puroindoline permet donc à densité égale, une meilleure reproductibilité du produit fini.

de puroindoline peut également L'addition 25 permettre d'améliorer une farine de mauvaise qualité celle-ci et d'obtenir à partir de biscuitière, biscuits de densité similaire à ceux obtenus à partir d'une farine de bonne qualité biscuitière.

présente la de œuvre la mise en Pour 30 invention, on peut ajouter la puroindoline à raison de 0,02 à 5%, de préférence 0,05 à 2% du poids sec de la farine utilisée pour la préparation du biscuit, selon la teneur initiale de la farine en puroindoline, la teneur finale que l'on souhaite obtenir. 35

On peut utiliser une préparation de puroindoline purifiée (contenant une seule isoforme ou un mélange d'isoformes); on peut également utiliser une fraction céréalière (par exemple gluten ou amidon) enrichie en puroindoline.

5

10

20

25

Les farines antérieurement utilisées en biscuiterie ont une teneur en puroindoline qui ne dépasse pas 0,2% (du poids sec de la farine). L'invention englobe également l'utilisation, pour la préparation de biscuits, de farines ayant une teneur en puroindoline supérieure à cette valeur, et de préférence comprise entre 0,2 et 5%, avantageusement entre 0,2 et 2% du poids sec de la farine.

On entend par « farine » non seulement de la 15 farine de blé, mais également de la farine d'autres céréales, telles que le seigle, l'orge, le triticale, ou l'avoine, ou un mélange de ces farines.

On peut utiliser des farines enrichies en puroindolines par addition de puroindoline purifiée, ou d'une fraction riche en puroindoline, comme indiqué cidessus; on peut également utiliser des farines obtenues à partir de variétés de céréales sélectionnées sur le critère de leur richesse en puroindolines, ou de céréales transgéniques surexprimant au moins une des isoformes de la puroindoline.

La présente invention englobe également les pâtes à biscuits, ainsi que les biscuits, susceptibles d'être obtenus à partir desdites farines.

La présente invention sera mieux comprise à 1'aide du complément de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples non-limitatifs d'utilisation de puroindoline dans la préparation de différents types de biscuits.

## EXEMPLE 1 : INCORPORATION DE PUROINDOLINES DANS LA FARINE

Un mélange des isoformes a et b de puroindoline a été extrait et purifié en utilisant la

méthode décrite par BLOCHET et al. (1991, publication précitée), modifiée par COMPOINT et al. [Large scale and rapid purification of plant lipid binding proteins by combining TRITON X114 phase partitioning and ion exchange Proteins Conference on Plant chromatography, European crops, Nantes, France (1996)]; la préparation obtenue est lyophilisée.

Les farines enrichies en puroindoline sont obtenues en mélangeant le lyophylisat, qui est désigné dans les exemples ci-après, par le terme « puroindolines purifiées », avec la farine.

10

15

Pour les expérimentations décrites dans les exemples ci-après, les mélanges ont été réalisés d'une part, à partir de farine du type habituellement employé en biscuiterie, contenant environ 0,1% à 0,15 puroindolines endogènes, et d'autre part, à partir de farine ne contenant pas de puroindoline endogène. Lorsque la quantité de farine utilisée est inférieure à 300 g, les mélanges sont réalisés directement dans le pétrin. Lorsque la quantité de farine utilisée est supérieure à 20 le mélange est préalablement homogénéisé par tamisage · des poudres (farine + puroindoline) au tamis 800um.

EXEMPLE 2 : EFFET DES PUROINDOLINES SUR UN BISCUIT SEC 25 LAMINÉ

# . Incorporation des puroindolines dans la farine

puroindolines des contenant Farine a) endogènes

Ţ

lyophilisées et puroindolines Les farine, contenant 0,15 % de puroindolines endogènes sont 30 mélangées dans un pétrin, selon les proportions indiquées dans le Tableau I ci-dessous.

Tableau I

	Farine	Quantité de puroindolines lyophilisées ajoutées	
Essai 0%	290 g	0 mg	
Essai 0,05%	290 g	145 mg	
Essai 0,1%	290 g	290 mg	
Essai 0,2%	290 g	580 mg	

Parallèlement, des mélanges témoins sont réalisés, en remplaçant les puroindolines par la même quantité d'ovalbumine, qui est une protéine classiquement utilisée pour augmenter le volume (et donc diminuer la densité), des biscuits.

b) Farine dépourvue de puroindoline endogène Une autre série d'essais est réalisée en ajoutant 0,2% de puroindolines purifiées, ou 0,2% d'ovalbumine, à une farine ne contenant pas de puroindoline endogène.

Pour les deux séries d'essais, la farine enrichie en puroindolines ou en ovalbumine est utilisée comme une farine classique dans la préparation d'un biscuit sec laminé, selon le protocole indiqué ci-après.

# . Formule du biscuit sec laminé

4

1

10

15

On mélange les ingrédients suivants, dans les proportions indiquées ci-après :

	Farine	100
20	Sucre glace	30,00
	Saindoux	8,00
	Bicarbonate d'ammonium	1,00
	Sel	0,63
	Bicarbonate de sodium	0,50
25	Pyrophosphate de sodium	0,50
	Eau	26,00

Le mélange est pétri pendant 8 minutes (température pétrin : 24°C, vitesse pétrin : 30 trs/min.)

Après repos pendant 30 minutes, la pâte est 30 laminée et découpée en pâtons à l'emporte-pièces.

Les pâtons sont cuits au four, à une température de 280°C, pendant 7 min.

# Densité des biscuits secs laminés

La masse, la longueur et l'épaisseur sont déterminées sur chaque biscuit, et la densité est calculée.

. •

L

Les résultats des essais a) sont illustrés par la Figure 1, qui représente la densité des biscuits en fonction de la quantité de puroindolines purifiées (□) ou de la quantité d'ovalbumine (•) ajoutées à la farine (% en poids par rapport au poids de la farine).

Aucune différence significative n'est observée 10 entre les biscuits fabriqués à partir de la et endogène, puroindoline 0,15% de contenant fabriqués à partir de cette même farine enrichie avec contre, puroindolines purifiées. Par de diminution de la densité des biscuits de l'ordre de 3% 15 est obtenue lorsque les biscuits sont fabriqués à partir de la farine contenant 0,15% de puroindoline endogène enrichie avec 0,1% ou 0,2% de puroindolines purifiées.

Les résultats des essais b) sont illustrés par 20 la Figure 2, qui représente la densité des biscuits obtenus à partir d'une farine ne contenant pas de puroindoline endogène, sans additif, ou additionnée de 0,2% (en poids par rapport au poids de la farine) de puroindolines purifiées, ou d'ovalbumine.

- 25 Légende de la Figure 2 :
  - Farine sans additif :
  - Farine + 0,2% puroindoline:
    - Farine + 0,2% ovalbumine :

séries deux résultats des Les induit une puroindoline de l'ajout montrent aue 30 biscuits nettement densité des diminution de la supérieure à celle induite par l'ovalbumine.

H

# EXEMPLE 3 : EFFET DES PUROINDOLINES SUR UN BISCUIT MOELLEUX

Les biscuits sont confectionnés selon la formule (% en poids) indiquée dans le Tableau II cidessous :

5

10

15

20

25

Tableau II

FARINE	30%
SUCRE	30%
OEUFS	4,5%
MATIERE GRASSE	10%
GLYCERINE	4%
EAU	18%
LACTOSERUM	2%
POUDRES LEVANTES	1,1%
SEL	0,4%
LÉCITHINE	0,4%

Trois farines différentes sont utilisées : une farine ne contenant pas de puroindoline (témoin 0% de puroindoline), la même farine à laquelle on ajoute 0,1% en poids par rapport au poids de la farine de puroindolines purifiées et une farine contenant 0,1% de puroindolines endogènes (témoin puroindoline endogène).

Pour l'obtention de la farine enrichie en puroindoline, la farine est tamisée avec les puroindolines à l'aide d'un tamis 800μm. Cette farine enrichie est ensuite retamisée avec le reste des poudres juste avant utilisation.

Ces poudres sont respectivement : des poudres levantes, du sel, de la lécithine, du sucre, des œufs en poudre. Elles sont pesées dans un même récipient et mélangées avec la farine juste avant l'emploi.

On effectue ensuite le mélange avec les ingrédients liquides, et l'on procède à la cuisson pendant 10 min. à 180°C.

On mesure la densité des biscuits obtenus, ainsi que l'évolution de leur texture au cours de la conservation. Les mesures sont effectuées selon les protocoles suivants :

#### Densité :

5

Des rondelles de 2 cm de diamètre sont découpées à l'emporte-pièce dans le biscuit et pesées. La densité est déterminée selon la formule suivante :

Densité =  $m/(p*r^2h/10)$ 

m = masse

r = rayon

h = hauteur des rondelles.

## Texture :

est l'aide mesurée à La texture 10 pénétromètre INSTRON; un cylindre, découpé dans biscuit à tester, est comprimé à vitesse constante. compression force-déplacement de la caractéristique de l'échantillon étudié. La mesure de la force moyenne nécessaire pour comprimer le produit permet 15 de déterminer sa fermeté.

Les paramètres de mesure sont les suivants :

- module de compression : cylindre de 2,5 cm de diamètre
- distance entre les plateaux : 15 mm
- 20 vitesse de traverse : 40mm/mm
  - charge de mesure à l'origine HO : 0,1 N
  - charge minimale sécurité : 100N
  - déplacement maximal (sécurité) : 13
  - compression initiale 0%
- 25 compression finale: 50%
  - critère de détection du pic : 0,1 N
  - valeur par défaut de max. 1 : 25%

#### Résultats :

## <u>Densité</u>

30 Les résultats sont illustrés par la Figure 3.

Légende de la Figure 3 :

- Farine contenant 0,1% de puroindoline endogène:
- Farine sans puroindoline endogène :
- Farine sans puroindoline endogène :
  - + 0,1% puroindolines:

Les biscuits obtenus à partir de la farine dépourvue de puroindoline endogène sont plus denses que les biscuits fabriqués à partir de la farine contenant 0,1% de puroindoline endogène. L'ajout de 0,1% de puroindolines purifiées à la farine ne contenant pas de puroindoline endogène entraîne une diminution d'environ 6% de la densité du biscuit; les biscuits moelleux obtenus de la sorte ont une densité similaire à celle des biscuits obtenus à partir de la farine contenant 0,1% de puroindoline endogène.

#### Texture

5

10

15

20

25

30

35

3

Les résultats sont illustrés par la Figure 4 qui représente l'évolution de la force moyenne (Fmoyen) au cours du temps, pour les biscuits obtenus à partir des différentes farines testées : farine contenant 0,1% de puroindoline endogène (**A**); farine sans puroindoline **(◆)**; farine sans puroindoline endogène endogène additionnée de 0,1% (en poids par rapport au poids de la farine) de puroindolines purifiées (=).

l'addition Ces résultats montrent que puroindoline a un effet significatif sur la texture du biscuit. Les biscuits obtenus à partir de la farine sans puroindoline endogène additionnée de puroindolines purifiées, ont une texture plus ferme, après 29 et 56 jours de conservation, que les biscuits obtenus à partir de la farine contenant 0,1% de puroindoline endogène, de la farine sans puroindoline endogène. A partir de 80 jours de conservation (ce qui est supérieur à la durée séparant normalement la fabrication du produit de

consommation), la différence de texture entre les produits n'est plus significative.

EXEMPLE 4 : EFFET DES PUROINDOLINES SUR UN BISCUIT FOISONNÉ

Les biscuits sont confectionnés selon la formule indiquée dans le Tableau III ci-dessous :

Tableau II	I	
	En %	En grammes
Farine	35	500
Sucre semoule	35	500
Oeufs entiers liquides	30	450

Deux farines différentes sont utilisées : une farine ne contenant pas de puroindoline endogène, et la même farine enrichie avec 0,1% en poids par rapport au poids de la farine de puroindolines purifiées.

La pâte à biscuits ainsi obtenue contient environ 4% de matières grasses apportées par les œufs et la farine.

La densité et la texture des biscuits obtenus sont mesurées comme indiqué à l'exemple 3 ci-dessus.

# <u>Résultats</u>

## Densité

10

Les résultats sont illustrés par la Figure 5.

- 20 Légende de la Figure 5 :
  - Farine sans puroindolines endogènes :
  - Farine sans puroindolines endogènes
  - + 0,1% puroindolines:

Ces résultats montrent que l'ajout de 0,1% de 25 puroindolines purifiées entraîne une diminution de 14% de la densité des biscuits.

## Texture

30

Les résultats sont illustrés par la Figure 6 qui représente l'évolution de la force moyenne (Fmoyen) au cours de la conservation, pour les biscuits obtenus à partir de la farine sans puroindoline endogène (�), ou de la farine sans puroindoline endogène, additionnée de 0,1%

poids par rapport au poids de la farine) de puroindolines purifiées (■).

Les biscuits foisonnés contenant puroindolines purifiées possèdent une texture plus ferme, qui se traduit par une fermeté supérieure de 13%, à 61 jours de conservation. Cet effet est plus important que celui, décrit à l'exemple 3, observé dans le cas des biscuits moelleux.

EXEMPLE 5 : EFFET DES PUROINDOLINES SUR UN FOISONNÉ CONTENANT 3% D'HUILE DE COLZA 10

#### . Incorporation des puroindolines dans la farine

sont confectionnés Les biscuits selon formule indiquée dans le Tableau IV ci-dessous

En % En gramme Farine 33,5 500 Huile de colza 50 3 Sucre semoule 33.5 500

Tableau IV

30

15 Deux farines différentes sont utilisées : une farine ne contenant pas de puroindoline endogène, et la même farine enrichie avec 0,18 de puroindolines purifiées.

L'huile de colza est ajoutée avant l'étape de 20 foisonnement.

La pâte à biscuits ainsi obtenue contient environ 7% de matières grasses, compte tenu de celles apportées par les œufs et la farine.

La densité et la texture des biscuits obtenus 25 sont mesurées comme indiqué à l'exemple 3 ci-dessus.

#### Densité

^

1

Les résultats sont illustrés par la Figure 7. Légende de la Figure 7 :

-	Farine	sans	puroindolines	endogènes	•		
---	--------	------	---------------	-----------	---	--	--

30 - Farine sans puroindolines endogènes + 0,1% puroindolines:

Oeufs entiers liquides

L'ajout de 0,1% de puroindolines purifiées à la farine ne contenant pas de puroindoline endogène entraîne une augmentation significative, de l'ordre de 20%, de la densité des biscuits.

## 5 . Texture

10

15

20

25

Les résultats sont illustrés par la Figure 8 qui représente l'évolution de la force moyenne (Fmoyen) au cours de la conservation, pour les biscuits obtenus à partir de la farine sans puroindoline endogène (�), ou de la farine sans puroindoline endogène, additionnée de 0,1% (en poids par rapport au poids de la farine) de puroindolines purifiées (■).

Les biscuits obtenus à partir de la farine additionnée de puroindolines ont, à 35 jours de conservation, une fermeté supérieure de 65% à celle des biscuits obtenus à partir de la farine sans puroindoline.

Les résultats obtenus montrent que l'effet des puroindolines sur la densité des biscuits foisonnés dépend de la teneur en matière grasse de la formule. On peut ainsi utiliser les puroindolines pour diminuer ou au contraire pour augmenter la densité de ce type de produit, selon sa teneur en matières grasses.

L'effet des puroindolines sur la texture apparaît également lié à la teneur en matière grasse; cependant, il va toujours dans le même sens, c'est-à-dire vers une augmentation de la fermeté.

#### REVENDICATIONS

- 1) Utilisation de puroindoline comme additif permettant de contrôler la texture et/ou la densité d'un biscuit.
- 5 2) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'on utilise la puroindoline à raison de 0,02 à 5% en poids par rapport au poids de la farine.

")

1

15

30

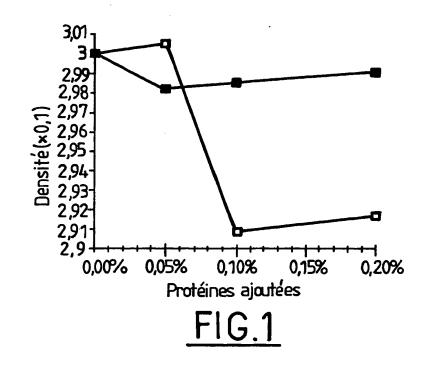
- 3) Utilisation selon une quelconque des 10 revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite puroindoline est ajoutée à la farine destinée à la préparation dudit biscuit.
  - 4) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite puroindoline est ajoutée à la pâte destinée à la préparation dudit biscuit.
  - 5) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que l'on utilise la puroindoline pour augmenter la fermeté du dit biscuit.
- 20 6) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour contrôler la densité d'un biscuit obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est comprise entre 2 et 30% du poids total de la pâte.
  - 7) Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour diminuer la densité d'un biscuit sec obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est comprise entre 2 et 20% du poids total de la pâte.
  - 8) Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour diminuer la densité d'un biscuit moelleux obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est comprise entre 2 et 30% du poids total de la pâte

- 9) Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour diminuer la densité d'un biscuit foisonné obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est inférieure ou égale à 4% du poids total de la pâte.
- 10) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour augmenter la densité d'un biscuit foisonné obtenu à partir d'une pâte sans émulsifiant ajouté dont la teneur en matière grasse totale est supérieure ou égale à 7% du poids total de la pâte

10

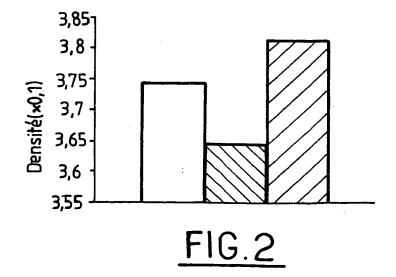
15

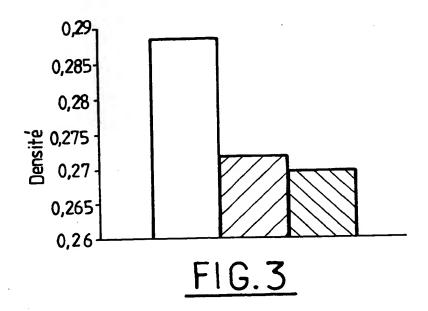
- 11) Utilisation d'une farine dont la teneur en puroindoline est supérieure à 0,2 % du poids sec de la farine, pour la préparation de biscuits.
- 12) Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que la teneur en puroindoline de ladite farine est comprise entre 0,2% et 2% du poids sec de la farine
- 20 13) Biscuit susceptible d'être obtenu à partir d'une farine telle que définie dans une quelconque des revendications 11 ou 12.
- 14) Pâte à biscuits susceptible d'être obtenue à partir d'une farine telle que définie dans une 25 quelconque des revendications 11 ou 12.



7

)





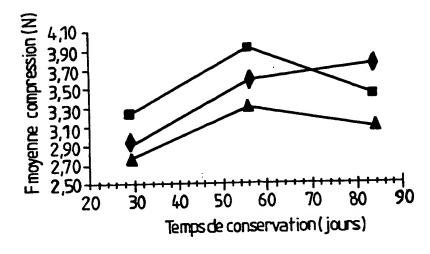
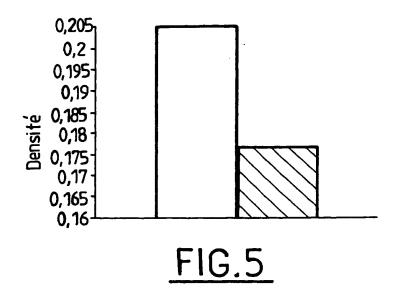
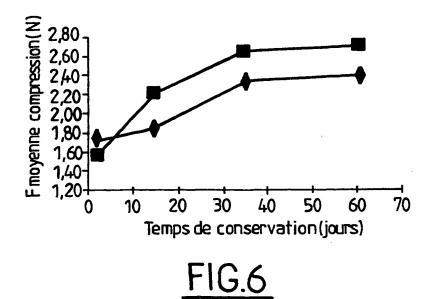
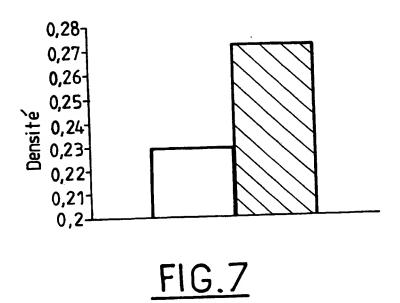


FIG.4







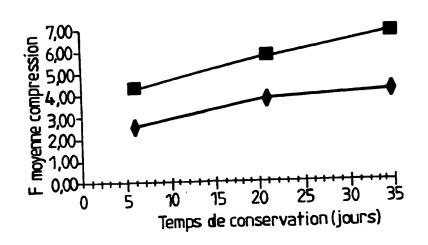


FIG.8

.